

Docket No. 034176.002



JCO2 Rec'd PTO 10 JUN 2005
PCT

PATENT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Patent Application of:

Applicant : Guofan Zhang

Serial No. : 10/532,675

Art Unit: Not Yet Assigned

Filed : April 26, 2005

Examiner: Not Yet Assigned

For : A METHOD FOR BREEDING OF A VARIETY OF PACIFIC
ABALONE WITH ORANGE SHELL

**CLAIM FOR PRIORITY AND SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT
UNDER 35 U.S.C. §119**

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir :

The above-referenced patent application claims priority benefit from the foreign
patent application listed below:


Chinese Application No. 02144515.X, filed November 1, 2002.

In support of the claim for priority, attached is a certified copy of the Chinese priority
application.

Respectfully submitted,

SMITH, GAMBRELL & RUSSELL, LLP

By:


Dennis C. Rodgers, Reg. No. 32,936
1850 M Street, N.W., Suite 800
Washington, D.C. 20036
Telephone: (202) 263-4300
Facsimile: (202) 263-4329

Date: June 10, 2005

证 明

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日： 2002. 11. 01

申 请 号： 02144515. X

申 请 类 别： 发明

发明创造名称： 一种皱纹盘鲍的制种方法

申 请 人： 中国科学院海洋研究所

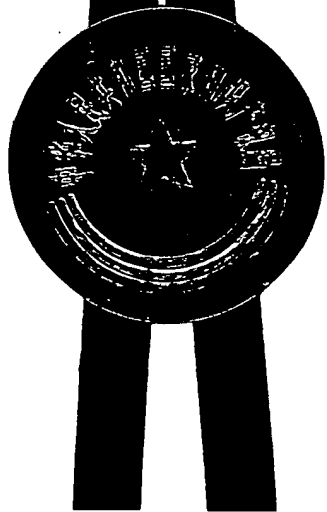
发明人或设计人： 张国范、赵洪恩、刘晓

CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT

中华人民共和国
国家知识产权局局长

王 景 川

2005 年 4 月 19 日



权 利 要 求 书

1. 一种橘红壳色皱纹盘鲍新品系的制种方法, 其特征在于: 利用皱纹盘鲍橘红壳色突变体间的单交或群交, 获得壳色性状一致的皱纹盘鲍新品系; 可按如下步骤操作:

1) 种鲍选择: 取自然地理群体或人工繁育群体中的性成熟皱纹盘鲍橘红壳色突变体作为种鲍;

2) 种鲍促熟: 取大小为中等偏上的性成熟个体, 置于 16~20℃ 的海水中, 培育密度为 25~80 枚/m³, 饲以天然饵料, 每天全量换水一次, 充天然空气, 有效积温 900~1400 度·日, 培育环境照度为 20~100Lux, 至性腺发育成熟;

3) 催产: 将性腺发育成熟的个体采用阴干、升温 and 紫外线照射海水刺激方法进行催产, 具体为: 在 18~20℃、空气湿度为 50~90% 的条件下阴干 60~120 分钟, 然后将雌雄种鲍分别置于不同的容器内, 雌雄个体严格分离, 注入升温至 22~23℃、照射强度为 300~1000mwh/L 的紫外线处理海水, 40~90 分钟后可获得雌雄配子;

4) 将分别获得的雌雄配子以单交或群交方式进行人工授精;

5) 按常规孵化及后期培育方法即可获得橘红壳色皱纹盘鲍新品系苗种。

3. 按照权利要求 1 所述制种方法, 其特征在于: 步骤 2) 中所述种鲍的配子发生也可采用自然成熟的方法。

4. 按照权利要求 1 所述制种方法, 其特征在于: 经步骤 3) 不能获得配子或不能获得足够量的配子时, 可更换海水重复步骤 3) 中注入升温至 22~23℃、照射强度为 300~1000mwh/L 的紫外线处理海水, 40~90 分钟步骤 1~2 次获得雌雄配子。

5. 按照权利要求 1 所述制种方法, 其特征在于: 步骤 3) 中所述容器容积按所置种鲍数量而定, 使一个种鲍所占容器容积为 10~20L。

6. 按照权利要求 1 所述制种方法, 其特征在于: 步骤 4) 中所述单交指同一群体内或群体间单个雌雄个体间的定向交配。

7. 按照权利要求 1 所述制种方法, 其特征在于: 步骤 4) 中所述群交指若干雌雄个体间的随机交配; 所述群交雌雄数量比例可以完全相等, 亦可近似相等。

8. 按照权利要求 1 所述制种方法, 其特征在于: 步骤 3) 天然饵料为大型藻类的海带、裙带菜、石莼中之一或其组合。

说明书

一种橘红壳色皱纹盘鲍新品系的制种方法

技术领域

本发明涉及皱纹盘鲍，具体地说是一种橘红壳色皱纹盘鲍新品系（*Haliotis discus hannai* Ino）的制种方法。

背景技术

皱纹盘鲍是我国鲍科（*Haliotidea*）种类中最重要的经济种类之一。主要分布于日本列岛北部、朝鲜半岛和中国辽东半岛和山东半岛的一部分水域。皱纹盘鲍绝大部分为雌雄异体，异体受精，成熟个体性腺雌性为深蓝色，雄性为乳白色，繁殖期在黄渤海区为 7~8 月。我国比较集中的海区有辽宁省的大连市，山东省的烟台、威海和青岛海域。皱纹盘鲍在鲍科中属中型种类，但在我国海域分布的种类中却是体形最大的，其肉质细腻柔韧、口感好，是我国鲍科各种类中品质最好、价格最高、最受市场欢迎的种类，为海产八珍之首，素有软黄金之称。皱纹盘鲍也是我国黄渤海区唯一进行规模养殖鲍科种类。

根据中华人民共和国水产行业标准的描述，野生型皱纹盘鲍的壳色是绿褐色或棕褐色，通称野生色，人工繁育群体的壳色为绿色，通称野生家养型壳色，简称野养色。但在自然海区也存在另外一种壳色的皱纹盘鲍，即贝壳的外部颜色为橘红色，该种壳色的皱纹盘鲍占群体总数的 0.01% 以低，除了壳色不同外，其他主要质量性状都与普通型皱纹盘鲍相同。群体内橘红壳色的个体是皱纹盘鲍的突变型。通过系统的杂交和选育培育出的完全为橘红壳色鲍是皱纹盘鲍的一个新品系。

由于橘红壳色皱纹盘鲍新品系不但具有靓丽的壳色，而且其抗逆性也强于一般的皱纹盘鲍。壳色靓丽可以刺激市场的消费，增加市场的占有率和价格；抗逆性的增强有利于拟制病害的发生，增加产业的经济效益。橘红壳色皱纹盘鲍新品系在质量性状和经济数量比普通皱纹盘鲍都显现出其一定的优势，因此其具有较高的经济价值。

遗传育种的理论与实验都已证明培育杂（近）交和选育是新品种培育的重要途径。农牧渔业新品种的培育大多采用定向杂交和选育的方法。

发明内容

为了解决橘红壳色皱纹盘鲍数量稀少的问题，本发明的目的是提供一种橘红壳色皱纹盘鲍新品系的制种方法。

为了实现上述目的，本发明的技术解决方案是：利用在自然群体或人工繁育群体中发生频率低于 0.01% 皱纹盘鲍橘红壳色突变体间的单交或群交，获得出壳色性状一致的皱纹盘鲍新品系；可按如下步骤操作：

1) 种鲍选择: 取自然地理群体或人工繁育群体中的性成熟皱纹盘鲍橘红壳色突变体作为种鲍, 贝壳为杂色或其它颜色者不得入选为种鲍;

2) 种鲍促熟: 取大小为中等偏上的性成熟个体, 置于 16~20℃ 的海水中, 培育密度为 25~80 枚/m³, 饲以天然饵料, 每天全量换水一次, 充天然空气, 有效积温 900~1400 度·日, 培育环境照度为 20~100Lux, 至性腺发育成熟;

3) 催产: 将性腺发育成熟的个体采用阴干、升温和紫外线照射海水刺激方法进行催产, 具体为: 在 18~20℃、空气湿度为 50~90% 的条件下阴干 60~120 分钟, 然后将雌雄种鲍分别置于不同的容器内, 雌雄个体严格分离, 注入升温至 22~23℃、照射强度为 300~1000mwh/L 的紫外线处理海水, 40~90 分钟后可获得雌雄配子;

4) 将分别获得的雌雄配子以单交或群交方式进行人工授精;

5) 按常规孵化及后期培育方法即可获得橘红壳色皱纹盘鲍新品系苗种。

另外, 步骤 2) 中所述种鲍的配子发生也可采用自然成熟的方法;

经步骤 3) 中所述加入升温紫外线照射海水 40~90 分钟后, 不能获得配子或不能获得足够量的配子时, 可更换海水重复步骤 3) 中注入升温至 22~23℃、照射强度为 300~1000mwh/L 的紫外线处理海水, 40~90 分钟步骤 1~2 次获得雌雄配子;

步骤 3) 中所述将雌雄种鲍分别置于不同的容器内, 其容器容积按所置种鲍数量而定, 一般使一个种鲍所占容器容积为 10~20L;

步骤 3) 天然饵料为大型藻类的海带、裙带菜、石莼中之一或其组合;

步骤 4) 中所述单交指同一群体内或群体间单个雌雄个体间的定向交配;

步骤 4) 中所述群交指若干雌雄个体间的随机交配; 所述群交雌雄数量比例可以完全相等, 亦可近似相等。

本发明具有如下优点:

利用了自然群体内壳色突变体培育出具有鲜明特色的橘红壳色皱纹盘鲍新品系, 没有外源基因的导入, 方法简便, 具有较强的可操作性, 生产性状明显优于普通皱纹盘鲍, 可以实现产业化应用。

具体实施方式

下面结合实施例对本发明作进一步详细说明。

实施例 1

通过雌雄个体之间的 1 对 1 交配获得所有子代全为橘红壳色的家系, 操作如下:

1) 亲本:

在中国大连自然海区中发现的壳色明亮、橘红壳色的雌雄鲍鱼成熟个体各 1 个, 雌鲍命名为 Rw, 体长 8.5cm; 雄鲍命名为 Rh 体长 9.8cm。

2) 种鲍促熟: 将 Rw、Rh 与野生色和野养色的皱纹盘鲍在一起促熟, 在 20℃ 条件下培养至有效积温达到 900℃·天, 密度为 25 枚/m³, 每日饲

以新鲜海带、裙带菜、石莼大型藻类天然饵料。饵料投放量以日计为：促熟种鲍整体体重的 30%，每天全量换水一次，充天然空气以补充氧气的不足，培育环境照度为 20Lux，成熟性状为：在消化腺与性腺结合部形成一明显的印痕，性腺饱满，表面有光泽，突出壳口面，雌性性腺呈深蓝色，雄性性腺呈乳白色；

3) 催产：当 Rw、Rh 的性腺发育成熟后，将 Rw、Rh 及壳色为野生色和野养色的皱纹盘鲍在 20℃、空气湿度为 50% 的条件下阴干 60 分钟，然后每个个体分别单独置于 20L 容器内，注入升温至 22℃、照射强度为 300mwh/L 的紫外线处理海水，1h 后换 1 次海水，换水后 90 分钟内所有催产的种鲍均排放配子；

4) 授精：将不同个体种鲍的卵子和精子均分成数份，分别与不同雄性个体的精子和雌性个体的卵子进行人工授精。交配策略见表 1。

5) 受精卵孵化及后期培育均按常规方法进行。

培育 80 天后，RwRh 家系获得壳长 0.5~1.0cm 的子代 3.45 万枚，所有子代均为橘红壳色。而所有其他交配组合的子代壳色均为野养色。各家系子代的壳色见表 1。

表 1 皱纹盘鲍各家系的亲本和子代性状

父 本	来 源	中 国		日 本	
	名称, 壳色	Rh (♂), 橘红色		Jm (♂), 野生色	
母 本		子 代		子 代	
来 源	名称, 壳色	家系名称	子代壳色	家系名称	子代壳色
中 国	Rw (♀)	RwRh	橘红色	RwJm	野养色
	C ₁ (♀)	C ₁ Rh	野养色	/	/
日 本	J ₁ (♀)	J ₁ Rh	野养色	/	/
	J ₂ (♀)	J ₂ Rh	野养色	/	/
	J ₄ (♀)	J ₄ Rh	野养色	/	/
	J ₅ (♀)	J ₅ Rh	野养色	/	/
	J ₆ (♀)	J ₆ Rh	野养色	/	/
	J ₇ (♀)	J ₇ Rh	野养色	/	/
	R _i (♀)	R _i Rh	野养色	/	/

其中：♀表示雌性；♂表示雄性。J 代表日本；Jm 为日本第 m 号个体。

培育结果：只有父母本都是橘红壳色皱纹盘鲍，才可得子代为橘红壳色新品系。

培育出壳色性状一致的皱纹盘鲍新品系，其质量性状的主要特征是：贝壳颜色为橘红色，数量性状的主要特征是：成活率比普通的皱纹盘鲍高 0~30%，早期生长速度比普通皱纹盘鲍高 0~15%，其它性状与普通皱纹盘

鲍无异。

实施例 2

与实施例 1 的不同之处在于：通过雌雄个体之间的群体交配获得所有子代皆为橘红壳色的群体。具体是：步骤 2) 种鲍促熟中培育水温为 16℃，密度为 80 枚/m³，有效积温为 1400 度·日，光照为 100Lux；步骤 3) 催产是在室内温度 20℃、湿度 90%条件下阴干 120 分钟，升温至 23℃，紫外线照射强度为 1000mwh/L，40 分钟后排放精卵。

亲本：以在人工繁殖并且一直在室内培育的一个皱纹盘鲍群体中发现的壳色整体呈暗橘红色调、但有丝状橘红色明亮环纹的个体为种鲍，实验时种鲍体长 8.5~9.5cm。

交配策略：在本实施例中，采用群体交配的方法，用 15 个雌鲍和 4 个雄鲍进行群体交配获得 P-RR 的群体 (PRR: 群体 RwRh)。取各个雄鲍的精子等量混合备用，取各个雌鲍的卵子等量混合后用预先等量混合的精子进行人工授精。培育条件同实施例 1。

受精卵孵化及后期培育均按常规方法进行。

通过橘红壳色雌雄个体之间的群体交配所获得的子代群体全为橘红壳色。

培育 100 天后，获得壳长 0.6~0.9cm 的子代 14.85 万枚，所有子代均为橘红壳色。而该群体的混合卵子与日本群体的精子交配或该群体的混合精子与日本群体的卵子交配均产生野养色子代。四个交配组合的群体培育情况见表 2。

表 2 P-RR 及相关群体的各项培育参数及子代壳色

交配组合	P-RR	P-JR	P-RJ
种鲍产地、数日 (头)	橘红色×橘红色	日本×橘红色	橘红色×日本
卵 量 (万)	273	283	245.3
孵化率 (%)	34	48	32
投苗量 (万)	92.16	135.72	78.48
投池数 (池)	3 池	4 池	2 池
附着率 (%)	19	17	20
剥离幼体数 (万)	17.7131	22.9515	15.5567
子代壳色	橘红色	野养色	野养色
8 月 24 日统计 (万)	14.85	17.99	12.69
存活率 (%)	84	78	82

实施例 3

通过雌雄个体之间的 1 对 1 交配获得所有子代皆为橘红壳色的家系。

本实施例的亲本来源同实施例 2；交配策略同实施例 1。步骤 2) 种鲍促熟中培育水温为 18℃，密度为 50 枚/m³，有效积温为 1200 度·日，光照为 50Lux；步骤 3) 催产是在室内温度 18℃、湿度 70%条件下阴干 90 分钟，升温至 23℃，紫外线照射强度为 700mwh/L，60 分钟后排放精卵。RR 家系是以壳色突变体 R-3 作母本、壳色突变体 R-4 作父本交配培育的家系。RR 家系现有体长 1.2~1.8cm 的子代 3.78 万枚，所有子代全为橘红壳色，家系 RR 及参比家系 RJ 和 JR 的各项培育参数见表 3。

表 3 RR 及相关家系的各项培育参数及子代壳色

家系名称	RR	JR	RJ
时 间	5 月 13 日	5 月 13 日	5 月 13 日
种鲍特征	父母本均橘红色	母本野生色，父本橘红色	母本橘红色，父本野生色
卵 量 (万)	23.0	19.5	14.5
孵化率 (%)	44	42	30
投苗量 (万)	10.08	8.28	4.32
附着率 (%)	39	2	40
剥离时间	7 月 16 日	8 月 8 日	7 月 30 日
剥离幼体数 (万)	3.9497	0.1632	1.7342
子代壳色	橘红色	野养色	野养色
8 月 24 日统计 (万)	3.7758	0.156	1.6999
存活率 (%)	96	96	98

其中：RJ 系以壳色突变体 R-3 作母本、日本野生型种鲍 J-10 为父本交配培育的家系；JR 系以日本野生型种鲍 J-12 作母本、壳色突变体 R-4 作父本交配培育的家系。

综上所述，只有橘红壳色皱纹盘鲍雌雄个体之间的交配才能产生全橘红壳色子代新品系；换言之，橘红壳色与杂色或其它壳色个体的结合均不会培养出全橘红壳色子代。皱纹盘鲍群体中橘红壳色非常稀有，野生型的绿褐色或棕褐色（野生色）或野生家养型的绿色（野养色）占有绝大多数，如在自然条件下获得橘红壳色子代群体的可能性微乎其微，本发明则解决了橘红壳色新品种的培育问题，并且可以达到产业化应用的目的。